

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 55-000307

(43)Date of publication of application : 05.01.1980

(51)Int.Cl.

C07D221/02
A01N 43/40
A61K 31/435
C12P 17/12
C12R 1/38

(21)Application number : 53-052261

(71)Applicant : IDEMITSU KOSAN CO LTD

(22)Date of filing : 02.05.1978

(72)Inventor : MURAKAMI NOBUO
YOSHIKAWA NOBUYUKI
HISATSUKA KENICHI

(54) PREPARATION OF 6-PHENYL-PICOLINIC ACID

(57)Abstract:

PURPOSE: To prepare 6-phenylpicolinic acid useful as a raw material for pesticides and pharmaceuticals advantageously from an inexpensive material, by culturing a 6-phenylpicolinic acid-producing bacteria which belong to the genus *Pseudomonas* in a culture medium containing biphenyl.

CONSTITUTION: Strains of the genus *Pseudomonas*, e.g. *Pseudomonas SG9611* (FERM-P No.4469) are cultured in a culture medium containing biphenyl as a carbon source. The culture is centrifuged and the 6-phenylpicolinic acid is extracted from the supernatant liquid and purified.

USE: Useful as pesticides or their raw material, having a herbicidal action on weed arrowhead by flooding soil tests. Some acid derivatives have anti-inflammatory actions and are useful as a raw material for pharmaceuticals.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑯ 日本国特許庁 (JP)
 ⑰ 公開特許公報 (A)

⑪ 特許出願公開
 昭55-307

⑯ Int. Cl.³
 C 07 D 221/02
 A 01 N 43/40
 A 61 K 31/435
 C 12 P 17/12
 C 12 R 1/38

識別記号
 A B E

厅内整理番号
 7306-4C
 6347-4H
 6617-4C
 6760-4B
 6760-4B

⑬ 公開 昭和55年(1980)1月5日
 発明の数 1
 審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ 6-フェニルピコリン酸の製造法

宇都宮市今泉町2565-271

⑯ 特 願 昭53-52261
 ⑯ 出 願 昭53(1978)5月2日
 ⑯ 発明者 村上信雄
 千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1727
 番地
 ⑯ 発明者 吉川信之

⑯ 発明者 久塚謙一
 千葉県君津郡袖ヶ浦町上泉1660
 番地
 ⑯ 出願人 出光興産株式会社
 東京都千代田区丸の内3丁目1
 番1号
 ⑯ 代理人 弁理士 久保田藤郎

明細書

1. 発明の名称

6-フェニルピコリン酸の製造法

2. 特許請求の範囲

シュードモナス属に属する6-フェニルピコリン酸生産菌をビフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を採取することを特徴とする6-フェニルピコリン酸の製造法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は6-フェニルピコリン酸の製造法に関し、詳しくはシュードモナス属に属するバクテリアをビフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を分離、採取することからなる6-フェニルピコリン酸の製造法に関するものである。

これまでに微生物による6-フェニルピコリン酸の生成に関しては全く知られておらず、該物質の化学的合成法に関してはケミカル・アブストラクツ (Chemical Abstracts) 第49巻、第8953

頁b欄および第78巻、582017に報告が見られるが、その合成はきわめて繁雑である。

本発明の目的は、これらの欠点を解消して安価な原料から6-フェニルピコリン酸を有利に製造する方法を提供することである。

本発明者らは、石油精製の際に多量に副生するビフェニルを利用することは省資源に寄与できること、また発酵法による物質生産は常温常圧で行なえるので省エネルギーにも寄与できることに着目し、ビフェニルを主栄養源とする培地を使用して比較的化学合成が困難な付加価値の高い物質を発酵法により製造すべく研究した。まず、各地の土壤よりビフェニル資化性菌を検索した後、これらの資化性菌の培養物中からビフェニル変換生成物を単離し、その構造を決定した。その結果、千葉県南部の土壤より単離したシュードモナス (Pseudomonas) 属の細菌が6-フェニルピコリン酸を生産することを見出し、本発明を完成したのである。

本発明の方法は、シュードモナス属する6-

フェニルピコリン酸生産菌をビフェニルを含有する培地に培養し、培養物から6-フェニルピコリン酸を採取することよりなる6-フェニルピコリン酸の製造法である。

本発明の方法に使用するシードモナス属の菌株としては、ビフェニルを資化し、かつ培養物中に採取するのに十分な量の6-フェニルピコリン酸を生産する能力を有するものであればよく、たとえば本発明者らによつて土壤から分離されたシードモナス SG 9611 株(以下、本菌と称する。)がある。

本菌の菌学的性質は以下に示す通りである。

a. 形態的性質

- (1) 形：桿菌
大きさ: $0.6 \sim 1 \times 1.3 \sim 5.5 \mu$
- (2) 多形性：なし
- (3) 運動性：あり
鞭毛(数)：極毛(1)
- (4) 胞子：なし
- (5) グラム染色：陰性

- (8) クエン酸利用性：なし
- (9) アンモニウム塩、硝酸塩の利用性：あり
- (10) 色素の生成：なし
- (11) ウレアーゼ：陰性
- (12) オキシダーゼ：陽性
- (13) カタラーゼ：陽性
- (14) 生育温度(°C): 14~41 (最適30~35)
pH: 4.4~8.7 (最適6.0~8.5)

- (15) 酸素に対する態度：好気性
- (16) O-Fテスト：酸化的
- (17) 糖類から酸の生成：下表参照
およびガスの生成 ガスの生成なし

* 30°Cで培養すると時間の経過と共に菌は長くなるが、25°Cで培養のときは不变である。

(6) 抗酸性：なし

b. 培養的性質

- (1) 肉汁寒天平板：生育不良、円形、表面乳頭状、隆起あり、周辺菌花状、内容均質、やまぶき色、湿光
- (2) 肉汁寒天斜面：生育不良、糸状
- (3) 肉汁液体：生育不良、かすかに白濁、小片浮遊、皮膜なし、沈渣あり
- (4) 肉汁ゼラチン穿刺：生育不良、液化せず
- (5) リトマスマルク：酸性、リトマス還元、不变

c. 生理的性質

- (1) 硝酸塩の還元：なし
- (2) 脱窒反応：陰性
- (3) MR テスト：陰性
- (4) VP テスト：陰性
- (5) インドールの生成：なし
- (6) 硫化水素の生成：微弱
- (7) 淀粉加水分解能：あり

表 - 1

糖類から酸の生成
(Hugh and Leifson 法)

糖	酸の生成		生育
	好気的*	嫌気的	
L-アラビノース	-	-	-
D-キシロース	+	-	+
D-グルコース	-	-	-
D-マンノース	±	-	±
D-フラクトース	+	-	+
D-ガラクトース	±	-	±
麦芽糖	+	-	+
シヨ糖	-	-	±
乳糖	-	-	±
トレハロース	-	-	-
D-ソルビット	-	-	-
D-マンニット	-	-	-
イノシット	-	-	-
グリセリン	±	-	-
デンプン	-	-	+

* pH 6.2~6.8

以上の菌学的性質をもとにしてバージーのマニユアル・オブ・ディタミネティプ・バクテリオロジー (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology) 第7版および第8版を検索した結果、本菌はシュードモナス (Pseudomonas) 属に属するものであることが判明した。なお、本菌はシュードモナス SG 9611 株 (微生物保管委託申請書受理番号第4469号) として工業技術院微生物工業技術研究所に保管されている。

本発明においては、前記菌株のほかその人工ならびに自然変異株は勿論のこと、シュードモナス属に属しビフェニルから 6-フェニルピコリン酸を生産する菌をすべて使用することができる。

本発明に使用する微生物の培養には、通常の培地成分として用いられている炭素源を使用できるが、ビフェニルを唯一もしくは主たる炭素源とすることが最適である。窒素源としては特に限定されることはないが、硝酸カリ、硝安、硫安、塩安、撲安、ポリペプトン等を用いることができる。また無機塩類としてリン酸二ナトリウム、リン酸一

カリウム等を用い、微量金属として硫酸マグネシウム、塩化カルシウム、硫酸第1鉄等を用いることができる。さらに必要に応じて界面活性剤、消泡剤などを添加してもよい。培養方法としては、振盪培養法、深部通気搅拌培養法等の液体培地を使用する方法が適当である。培養温度は 25~35°C、培養 pH は中性付近、培養日数は 2~5 日間が適当である。

培養終了後、蓄積された 6-フェニルピコリン酸は遠心分離等の操作により得られる溶液から抽出、精製することが可能である。精製に際しては溶媒抽出、濃縮、結晶化等の手段を単独または適宜組合せて行なうことができる。たとえば培養終了後、培養液の遠心分離により得られる上澄区分を減圧濃縮後、塩酸を加えて pH を 3~4 とし、ベンゼン-酢酸エチル混液等を用いて目的物質を抽出する。溶媒層を脱水後、濃縮乾固して得られた残渣から、結晶化により粗製の目的物質を得る。さらに、必要に応じて再結晶を行ない精製する。

このようにして得られた生産物質の物理化学的

性質は以下の通りである。

(1) 元素分析値

C : 72.6 %, H : 4.3 %, N : 6.5 %,
O : 16.6 %

(2) 分子量

マススペクトルから 199 である。

(3) 融点

104~106°C

(4) 赤外線吸収スペクトル

第1図に示す通りである。

(5) 呈色反応

エーリッヒ反応は陰性

(6) 塩基性、中性、酸性の区別

酸性

(7) 物質の色

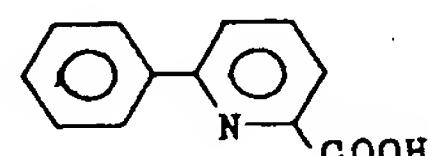
無色結晶

(8) 核磁気共鳴スペクトル

第2図に示す通りである。(シアゾメタンによるメチルエステル化物を示す。)

以上の分析データより生産物質の構造は下記に

示される 6-フェニルピコリン酸と同定した。



本発明によれば、石油精製に際して副生する未利用のビフェニルを有効に利用して 6-フェニルピコリン酸を簡単に得ることができる。また、本発明によつて得られる 6-フェニルピコリン酸は灌水土壌試験で雑草ウリカワに対して殺草性を示すので、農薬またはその原料として有用である。しかも、6-フェニルピコリン酸誘導体には抗炎症作用物質も見出されていることから、医薬原料としても有用である。

次に本発明の実施例を示す。

実施例 1

シュードモナス属細菌 SG 9611 株 (微生物寄第4469号) を、ビフェニル 2 %, ポリペプトン 0.2 %, リン酸二ナトリウム (1/2水塩) 1 %, リン酸一カリウム 0.55 %, 硫酸マグネシウム (1/2水塩) 0.02 %, 塩化カルシウム (1/2水

塩) 0.001%, 硫酸第1鉄(7水塩) 0.0001%, 酵母エキス 0.01%, コーン・ステープ・リカ - 0.01% を含む pH 7.0 の培地 500 ml (500 ml 突起付変形フラスコ) に植菌し、30℃で3日間回転培養を行なつた。このときの 6-フェニルピコリン酸の生成量は 350 mg/l であつた。なお、定量はジアゾメタンでメチルエステルに誘導した後、ガスクロマトグラフィーにより行なつた。

培養終了後、培養液 800 ml を遠心分離して得られた除菌培養液を 150 ml に濃縮した。次いで、塩酸で pH 3.5 とした後、ベンゼン: 酢酸エチル = 4: 1 混液を用いて抽出を行なつた。溶媒層を硫酸ナトリウムで乾燥後、濃縮乾固した。残渣に熱したエタノール: 水 = 1: 9 混液を加え、可溶部を別の容器に移しとり冷蔵した。析出した粗結晶を集め、エタノール - 水素で再結晶を行ない、200 mg の精製 6-フェニルピコリン酸を得た。

実施例 2

実施例 1においてポリペプトン 0.2% の代りに硝酸アンモニウム 0.2% を用いたこと以外は実施

例 1 と同様に培養を行なつたところ 6-フェニルピコリン酸の生成量は 110 mg/l であつた。

実施例 3

実施例 1においてポリペプトン 0.2% の代りに硝酸カリウム 0.2% を用い、培養日数を 5 日間としたこと以外は実施例 1 と同様に行なつた結果、6-フェニルピコリン酸の生成量は 250 mg/l であつた。

4. 図面の簡単な説明

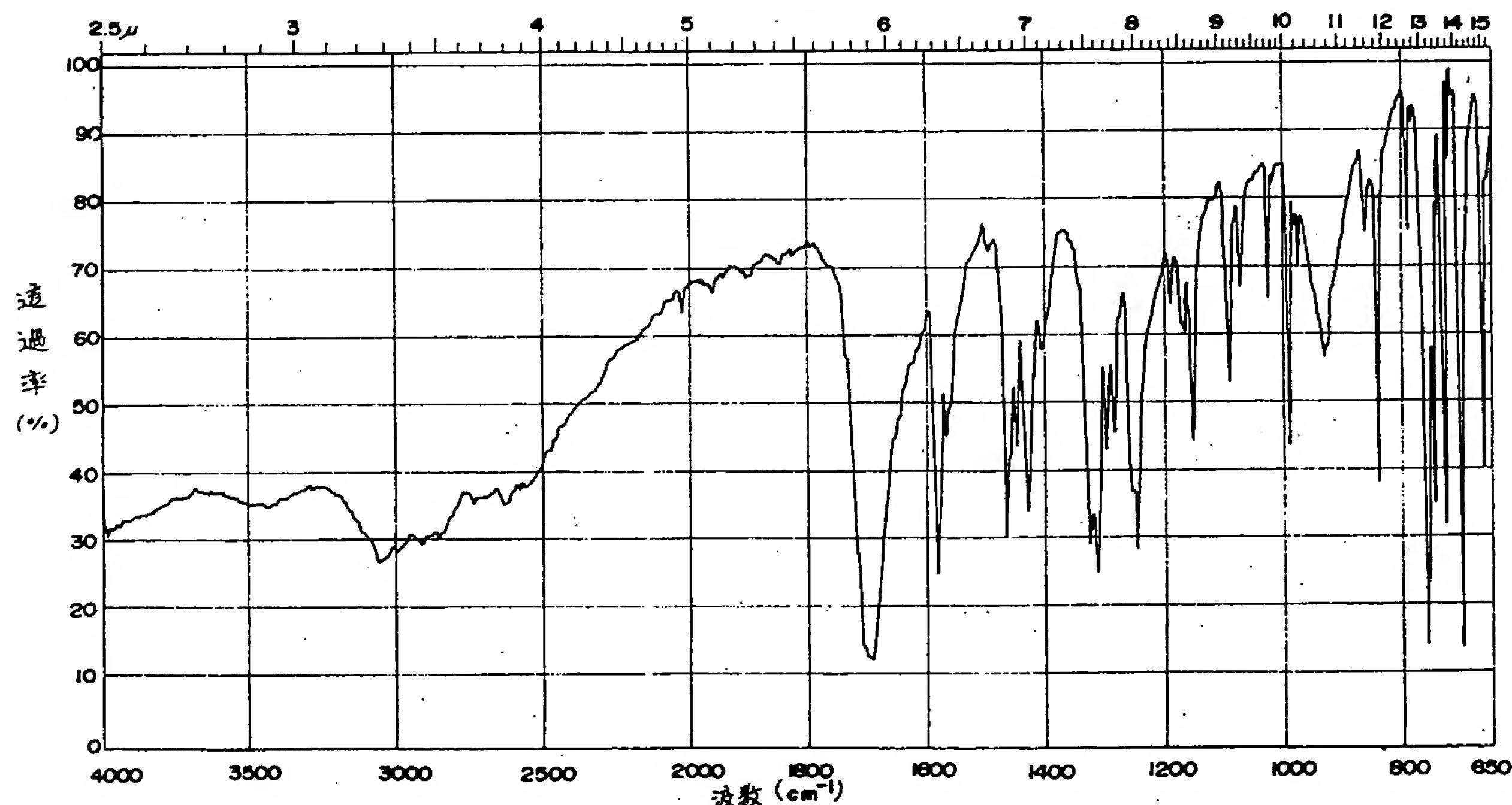
第 1 図は本発明により得られた 6-フェニルピコリン酸の赤外線吸収スペクトル、第 2 図は核磁気共鳴スペクトルである。

特許出願人 出光興産株式会社

代理人 弁理士 久保田 藤郎

第 1 図

波長 (μm)



第 2 図

特開昭55-307(5)

